كفاءة إنزيم البروتيز المعزول والفضة النانوية المصنعة بيولوجيًا من فطر *Trichoderma harzianum* في مكافحة طوري اليرقي والعذري للذبابة المنزلية

مصطفى نزهان مهدي، قسم علوم الحياة ،كلية التربية للعلوم الصرفة ،جامعة تكريت

Email :mostafa.na.mahadi@tu.edu.iq

كفاءة إنزيم البروتيز المعزول والفضة النانوية المصنعة بيولوجيًا من فطر *Trichoderma harzianum* في مكافحة طوري اليرقي والعذري للذبابة المنزلية

مصطفى نزهان مهدي، قسم علوم الحياة ،كلية التربية للعلوم الصرفة ،جامعة تكريت

Email :mostafa.na.mahadi@tu.edu.iq

المستخلص :

هدفت الدراسة الحالية إلى اعتماد محورين رئيسيين من أساليب المكافحة الحيوية الصديقة للبيئة، والتي تتميز بخلوها من التأثيرات السلبية على السلسلة الغذائية، فضلاً عن توظيف تقنيات حديثة تمثلت باستخدام المواد النانوية المحضّرة حيوياً.

أظهرت النتائج إمكانية التخليق الحيوي لجسيمات الفضة النانوية (AgNPs) باستخدام الكتلة الحيوية لفطر *T. harzianum*، كما كشفت نتائج الدراسة عن وجود فروقات معنوية في تأثير المعاملات المختلفة على بعض الأطوار الحياتية لحشرة الذبابة المنزلية، حيث شملت المعاملات إنزيم البروتيز_المعزول من فطر *T. harzianum* ، وجسيمات الفضة النانوية المحضّرة حيوياً، بالإضافة إلى المعاملة المشتركة بينهما بطريقة الرش. وقد أظهرت المعاملة المزدوجة (جسيمات الفضة النانوية + إنزيم البروتيز) أعلى كفاءة حيوية، إذ سجلت أعلى معدل قتل في الطور اليرقي بلغ 30 يرقة عند تركيز 25% مقارنةً بمعاملة السيطرة (ماء مقطر) التي لم تُظهر أي تأثير (0 يرقة). كما سُجل تأثير معنوي مماثل في طور العذراء، حيث بلغ عدد العذارى المتأثرة 28 عذراء عند نفس التركيز، مقابل عدم تسجيل أي تأثير في معاملة السيطرة. تُشير هذه النتائج إلى فعالية التكامل بين المواد النانوية والإنزيمات الفطرية كأحد الاتجاهات الواعدة في برامج المكافحة الحيوية المتقدمة.

Abstract :

The current study aimed to adopt two main approaches to environmentally friendly biological control methods, characterized by their lack of negative impacts on the food chain, and to employ modern technologies represented by the use of bio-— synthesized of nanomaterials.

The results showed the possibility of biosynthesizing silver nanoparticles (AgNPs) using the biomass of the fungus *T. harzianum*. The study also revealed significant differences in the effect of different treatments on the some life stages of the housefly. These treatments included the protease enzyme of *T. harzianum* and bio-prepared AgNPs, and a combined treatment using a spray application. The combined treatment (silver nanoparticles + protease enzyme) demonstrated the highest biological efficiency, recording the highest larval mortality rate of 30 larvae at a concentration of 25%, compared to the control treatment, which showed no effect (0 larvae). A similarly significant effect was observed in the pupal stage, with 28 pupae affected at the same concentration, compared to no effect in the control treatment. These

results suggest the effectiveness of integrating AgNPs_with fungal enzymes as a promising approach in advanced biological control programs.

1-1.المقدمة :

تعد الذبابة المنزلية من الحشرات الشائعة الانتشار، واسمها العلمي *Musca domestica* L. (Diptera : Muscidae)، آفة شائعة تصيب الإنسان، وتُعرف بإزعاجها الشديد، كما اكتُشف أنها تنقل الكائنات الدقيقة الممرضة إليه ميكانيكيًا مثل نقل اكياس امبيا الزحار. تستطيع الذبابة المنزلية نقل الأمراض إلى الإنسان نظرًا لارتباطها الوثيق به. تتغذى الذبابة المنزلية على الأطعمة السائلة أو شبه السائلة، ولذلك عندما تهبط على طعام الإنسان الصلب، فإنها تتقيأ سائلًا يحتوي على اللعاب والعصارات الهضمية، والتي قد تحتوي على مسببات الأمراض المتراكمة في مريئها من وجبتها السابقة من المواد المتعفنة والمتحللة، مثل براز الإنسان والحيوان. فإن حركتها المستمرة من المواد القذرة، مثل براز الإنسان، إلى الطعام، تجعلها ناقلًا مثاليًا للأمراض. أظهرت العديد من الدراسات أن الذبابة المنزلية تساهم في نقل العديد من بيوض ديدان الأسكاريس (Hassan,et al.2021) وغيرها من المسببات المرضية .

اتجهت البحوث الحديثة إلى البحث عن تقنيات بديلة أكثر أمانًا وفعالية، تتميز بقدرتها على مكافحة الحشرات دون الإضرار بالبيئة، وذلك من خلال استغلالها كبدائل للمبيدات الكيميائية التقليدية (البجواري ،2016). لذلك تم في الآونة الأخيرة التوجه نحو استخدام المكافحة الحيوية.

تزايد الاهتمام بالمسببات المرضية واسعة الانتشار ذات الفعالية العالية في القضاء على مجتمعات الحشرات، ومن أبرزها الفطريات الممرِضة مثل *Trichoderma harzianum* , *Metarhizium anisopliae* وغيرها، والتي تُعد من أفضل العوامل المستخدمة في المكافحة الحيوية الجرثومية (**Oliveira**,et_al.2006)

وهدفة الدراسة الحالية الى استخدام احد نواتج الايض الثانوي لفطر *Trichoderma harzianum*, وهو إنزيم البروتيز الذي يعد من العوامل الحيوية المهمة في مكافحة الحشرات، وذلك لعدة أسباب تتعلق بسهولة إنتاجه وكفاءته العالية وتأثيره البيولوجي المباشر على الحشرات المستهدفة ،تم استخدام الجسيمات النانوية كوسيط ناقل انزيم البروتيز بهدف تحسين نفاذيته عبر الكيوتكل الحشري وزيادة كفاءة وصول المركبات الحيوية الفعالة إلى الأنسجة الداخلية، مما يساهم في تعزيز الفعالية القاتلة عند استخدام تراكيز منخفضة. في حين يمثل انزيم البروتيز العامل الحيوي المسؤول عن التأثير المباشر من خلال محتواه الإنزيمي والمركبات الثانوية الفعالة.

1-2 مواد البحث وطرائقه

تم جمع الحشرات المستخدمة في الدراسة، والمتمثلة بكاملات الذبابة المنزلية، من إحدى المناطق السكنية في مدينة تكريت/ محافظة صلاح الدين باعتماد طريقة المتبعة من قبل عبدالفتاح (1989) ثم وضعت في أقفاص التربية لكي يضع الذباب البيض لإنتاج اجيال جديدة من الحشرة لغرض الدراسة عليها , وتمت هذه العملية في ظروف بيئية مناسبة في درجة حرارة تتراوح بين 5 ± 30 مْ ورطوبة نسبية (25±70)% (West،1951).

شكل (1) صندوق تربية الحشرات

1-2-1 تنشيط العزلة الفطرية

استعملت في هذا البحث عزلة من الفطر *T. harzianum* مشخصة من وزارة العلوم والتكنلوجيا/ دائرة البحوث الزراعية والمعرفة بالرمز (mt648463.1,T7).

تم تنمية العزلات الفطرية على وسط(Potato Dextrose Agar (PDA، وحضر الوسط حسب تعليمات الشركة المصنعة، حيث أُضيف الوسط المحضر إلى الأطباق بسمك مناسب، ثم لُقِّح بالعزلات الفطرية، وحُضنت عند درجة حرارة (28°م) لمدة 5–10 أيام، وذلك للحصول على كتلة حيوية من نمو فطري كافٍ لأغراض الدراسة.

1-2-2 انتاج وتقدير انزيم البروتيز

تم استخدام وسط الحد الأدنى المدعّم بالكازائين لانتاج انزيم البروتيز باعتماد الطريقة Tweddell (1994)

إتبعت طريقة (Tweddell etal.,1994) لتقدير إنزيم البروتيز إذ يتكون مزيج التفاعل من إضافة 0.5 مل من محلول الكازائين (1%) حضن في حمام مائي بدرجة حرارة 37°م لمدة ساعتين وبعدها أضيف 1 مل من محلول (Di nitro salsalic acid)(DSA) ووضع المزيج في حمام مائي بدرجة حرارة 100°م لمدة 5 دقائق بعدها بردت الأنابيب وقيست الامتصاصية في جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer على طول موجي 540 نانوميتر. إعتمد المنحنى القياسي لسكر ن- أستايل كلوكوز أمين في تقدير الفعالية الإنزيمية إذ عُرفت الفعالية الإنزيمية بأنها كمية الإنزيم اللازمة لتمرير 1 مايكرومول من سكر ن- أستايل كلوكوز أمين في الدقيقة الواحدة وحسب ظروف التفاعل

1-2-3 تصنيع جسيمات الفضة النانوية حيويًا باستخدام الفطر *T. harzianum*

تم تحضير محلول نترات الفضة بتركيز (1mM) من خلال إذابة (0.17 غم) من نترات الفضة ($AgNO_3$) في (1000 مل) من الماء المقطر المعقم، مع التحريك الجيد لضمان الذوبان الكامل. ثم حُفظ المحلول في قناني معتمة لحمايته من تأثير الضوء إلى حين الاستخدام (Asadi,etal.2018)

بعد الحصول على الكتلة الحيوية الفطرية، تم ترشيحها باستخدام أوراق ترشيح نوع ، ثم جُمعت الكتلة الحيوية الحاوية على الغزل الفطري وغُسلت ثلاث مرات بالماء منزوع الأيونات المعقم لإزالة بقايا الوسط الغذائي. بعد ذلك، سُحقت الكتلة الحيوية باستخدام هاون خزفي معقم لغرض تحرير المواد الايضية الثانوية من الغزل الفطري من خلال تحطيم الجدار الخلوي الفطري لأجل اختزال نترات الفضة الى جسيمات الفضة النانوية.

رُشحت الكتلة الحيوية مرة أخرى باستخدام ورق ترشيح نوعWhatman No.1 ، ثم أُجري الطرد المركزي للراشح بسرعة (6000 دورة/دقيقة) ولمدة (10 دقائق) للحصول على الراشح الصافي. بعد ذلك، أُخذ (900 مل) من راشح الكتلة الحيوية وأُضيف إليه (100 مل) من محلول نترات الفضة ($AgNO_3$) بتركيز (1mM) المحضّر مسبقًا، في حين تُرك (100 مل) من الراشح دون إضافة ليُستخدم كمعاملة سيطرة(Control) .

حُضنت الدوارق في حاضنة هزازة بسرعة (100 دورة/دقيقة) وعند درجة حرارة (25±2)°م وتحت ظروف مظلمة لمدة (96 ساعة)، وذلك لإتمام عملية الاختزال الحيوي وتكوين جسيمات الفضة النانوية. (Gupta and Chauhan 2017,).

1-4 تحضير التراكيز المستخدمة في الدراسة وحساب

تم تحضير سلسلة من التراكيز المختلفة من انزيم البروتيز الناتج من الفطر المستخدم في الدراسة، وكذلك محلول الفضة النانوية تم تخفيف بالماء المقطر لإعداد التراكيز (0، 5، 10، 15، 20، 25)%. وقد مثّل التركيز (0%) معاملة السيطرة، حيث استُخدم الماء المقطر بدلًا من المحلولين اعلاه. وتم حساب التراكيز باستخدام المعادلة التالية:

$$ح_1 \times ت_1 = ح_2 \times ت_2$$

ح1 = الحجم الأولي للمحلول المركز قبل التخفيف .
ت1 = التركيز الأولي للمحلول قبل التخفيف .
ح2 = الحجم النهائي للمحلول بعد إضافة المذيب .
ت2 = التركيز النهائي للمحلول بعد التخفيف.

كما تم إعداد مزيج من انزيم البروتيز مع جسيمات الفضة النانوية بنسبة (1:1). واستُخدمت هذه التراكيز المختلفة في معاملة طور اليرقة والعذري لحشرة الذبابة المنزلية لغرض تقييم تأثيرها الحيوي.

تم اعتماد ثلاث مكررات لكل تركيز , حيث أُخذت (30) يرقة و(30) عذراء من المستعمرة الحشرية، ووُضعت في أطباق بتري تحتوي على (10 غم) من وسط التربية.

رُشّت اليرقات والعذارى سطحيًا بالتراكيز المختلفة للمعاملات المحضّرة مسبقًا، كل معاملة على حدة، باستخدام مرشة يدوية بكمية (5 مل) لكل مكرر، ومن ارتفاع يقارب (15 سم) لضمان تعريض جميع الأفراد للمواد المستخدمة. أما معاملة السيطرة فقد رُشّت بالماء المقطر.

بعد ذلك، وُضعت أطباق بتري في الحاضنة تحت ظروف مختبرية مناسبة، مع المتابعة المستمرة، حيث تم تسجيل مدة الطور اليرقي وطور العذراء لكل معاملة ولكل تركيز، وذلك وفقًا لما ورد في (محمود، 2017).

1-5 انتاج انزيم البروتيز

تم التحري عن فعالية انزيم البروتييز المنتج من الفطر فطر *T. harzianum* وتقديرها في راشح المزرعة تبعا للطريقة الموصوفة من قبل (Sirisha et al. 2010) .

1-6 التحليل الإحصائي Statistical Analysis

حللت النتائج احصائيا بتطبيق البرنامج الاحصائي Mintab تصميم التجربة العشوائي الكامل (Completely Randomized Design, CRD)، وذلك لدراسة تأثير المعاملات المختلفة والتراكيز المستخدمة . وتم مقارنة المتوسطات الحسابية للمعاملات باستخدام اختبار دنكن متعدد الحدود بمستوى احتمالية L.S.D.0.05_(الراوي وخلف الله,2000).

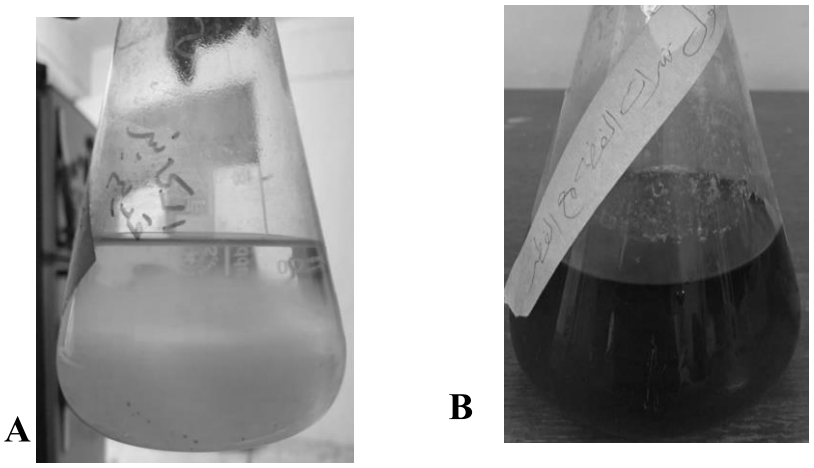
1-6 النتائج والمناقشة

1-6-2 تحضير جسيمات الفضة النانوية

أُشير إلى تكوّن الجسيمات النانوية من خلال مجموعة من المؤشرات، تتمثل فيما يأتي:

1-6-2-1 تغير لوني

بعد انتهاء فترة التحضين لوحظ تغير لون المحلول المائي للفطر مع نترات الفضة من الأبيض المائي إلى الأحمر كما في الشكل (2), يحصل هذا التغير في اللون بسبب تأثير العوامل المختزلة الموجودة في المستخلص الفطري التي ادت الى اختزال ايون الفضة الى دقائق الفضة النانوية المستقرة اذ ثبت ان الدقائق النانوية للفضة تظهر خصائص ظاهرة رنين بلازمون السطح تحدثت هذه الظاهرة نتيجة لتذبذبات الالكترونات الحرة على سطح الدقائق المعدنية في بعض المعادن مثل الفضة نتيجة لوصول أقطر جسيماتها لمقياس النانومتر (Constantin,etal.2023).



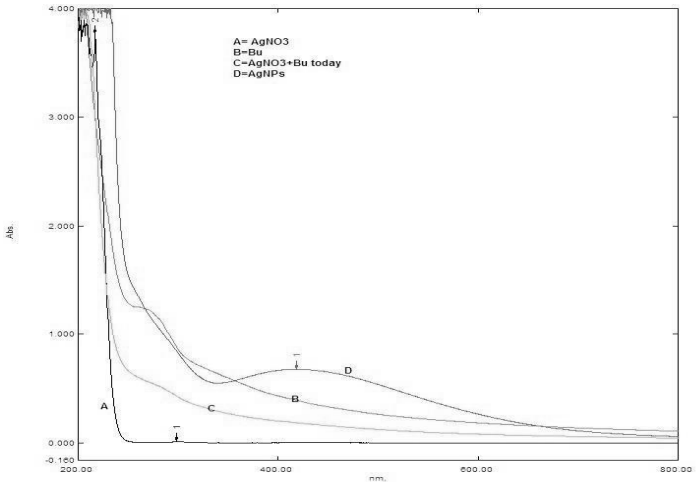
شكل (2) التغير اللوني لمحلول نترات الفضة بوجود الفطر قيد الدراسة

A- راشح الفطر
B- محلول نترات الفضة

1-6-2-2 امتصاصية الفضة النانوية

بينت نتائج الدراسة الحالية قدرة مستخلص الفطر *T. harzianum* على اختزال نترات الفضة الى جسيمات الفضة النانوية من خلال ظهور طيف الامتصاصية للأشعة فوق البنفسجية والمرئية عند 400-418 nm(الشكل **3**).

ويعزى ظهور طيف الامتصاص اعلاه الى الإنزيم المرتبط مع الفطر والمتمثل بإنزيم اختزال النترات الذي يكون مسؤول تشكيل جسيمات الفضة النانوية.



شكل (3) تشكل جسيمات الفضة النانوية AgNPs خلال طيف الامتصاصية للأشعة فوق البنفسجية والمرئية للفطر *T. harzianum*

A = AgNO3

محلول نترات الفضة فقط (Silver nitrate) ، وهو المصدر الأساسي لأيونات الفضة Ag^{+}.

B = Bu

يرمز إلى الراشح الفطري أو المستخلص الحيوي المستخدم في الاختزال (Biological extract / Broth filtrate). اي الوسط الحاوي على المركبات الحيوية المنتجة من الفطر .

C = AgNO3 + Bu today

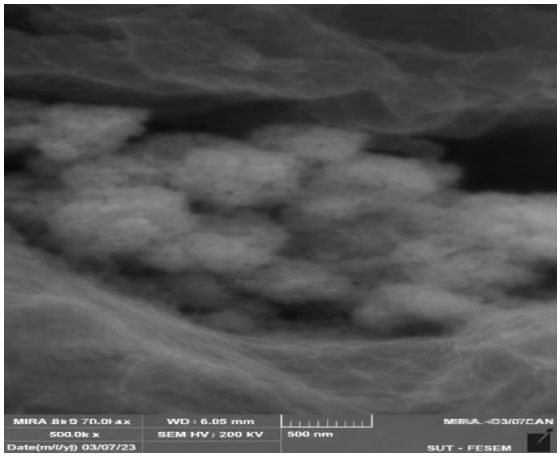
خليط نترات الفضة مع الراشح الحيوي مباشرة في نفس اليوم بعد الخلط، أي قبل اكتمال التفاعل أو في بدايته .

D = AgNPs تعني Silver Nanoparticles أي جسيمات الفضة النانوية المتكونة بعد انتهاء التفاعل.

1-6-2-3 المجهر الالكتروني الماسح Scanning electron microscopy (SEM)

يبين الشكل (4) لجسيمات الفضة النانوية المحضرة باستخدام الفطر *T. harzianum* توزيع ذرات الفضة التي تكون على شكل حبيبات كروية ان معدل حجم حبيبات الفطر كانت 46.63nm وظهرت الحبيبات متجانسة وغير متلاصقة مما يؤكد تشكل الجسيمات النانوية إن نتائج هذه الدراسة كانت متوافقة مع عدد من الدراسات التي استعمل فيها الفطريات لانتاج الجسيمات النانوية كدراسة (Bhard وجماعته, (2006) الذي أشار إلى إمكانية استخدام الفطر *Verticillium* sp في إنتاج الجسيمات النانوية وأَثبتوا وجودها بأحجام تتراوح بين 20- 80 nm، كما أَثبت الباحثان

Qamandar و Shafeeq (2018) قدرة الفطر *Beauveria bassiana* على إنتاج الجسيمات النانوية وبحجم 23–82 nm



شكل (4) شكل وحجم وتوزيع جسيمات الفضة النانوية (AgNPs) المحضرة حيوياً بوساطة الفطر *T. harzianum* الموضحة باستخدام المجهر الإلكتروني الماسح عند قوة تكبير 70.0 kx

تُظهر النتائج الواردة في الجدول (1) مدى فاعلية تاثير المواد النانوية مع انزيم البروتيز في نسبة هلاك الطور اليرقي. اذ سجل التركيز **25%** اعلى نسبة هلاك اذ بلغت 30 يرقة بعد 24 –48 ساعة من المعاملة , واقل نسبة هلاك كانت عند التركيز **5%** اذ كانت نسبة الهلاك 9 يرقات بعد 24 –48 ساعة من المعاملة توضح النتائج وجود فروق معنوية بين التركيزين من جهة، وبين فترتي التعريض من جهة أخرى. كما أظهرت التراكيز 10%و15% و20% نسب هلاك متفاوتة، إذ سجلت جميعها فروقًا معنوية فيما بينها. ويبين التحليل الإحصائي أن جميع التراكيز تفوقت معنوياً مقارنةً بمعاملة السيطرة، التي لم تسجل أي نسبة هلاك (0%) بعد مرور 48 ساعة. تتفق نتائج الدراسة الحالية مع ما توصل اليها المشهداني 2022 في دراستها للتأثيرات الحيوية لدقائق الفضة النانوية المحضرة والمصنعة باستخدام مستخلص أوراق السبحبح ضد يرقات الذبابة المنزلية اذ وجد أن دقائق الفضة النانوية لديها قدرة عالية على قتل يرقات الذبابة المنزلية . كما تتفق هذه النتائج مع دراسة Zohreh وجماعته,(2020). وجد أن مزيج المستخلص المائي لأوراق نبات السبحبح مع جزيئات الفضة النانوية له قدرة فائقة على قتل يرقات الذباب المنزلي-. كما تتفق هذه النتائج مع دراسة للكلش_(2023) وجد أن مزيج المستخلص المائي لنبات الحرمل مع جزيئات الفضة النانوية له قدرة فائقة على قتل يرقات الذباب المنزلي اذا ان نسبة هلاك اليرقات تزداد بنسبة (93.3%) عند تركيز (12.5%) من المستخلص النباتي الحرمل الممزوج مع الفضة النانوية يلاحظ ان الفترة الزمنية لقتل اليرقات تكون اسرع مع تغير في اللون لليرقات من الابيض الى البني.

يُعزى التفوق الملحوظ لجسيمات الفضة النانوية الممزوجة مع مستخلص إنزيم البروتيز إلى التوافق الفعال بينهما نتيجة صغر حجم الجسيمات، مما يبرز تأثيرًا تآزريًا قويًا على الطور اليرقي للحشرات. يعمل إنزيم البروتيز على تحليل البروتينات المكوِّنة للكيوتكل، مما يضعف الطبقة الخارجية ويزيد من نفاذيتها، وبالتالي يسهل اختراق جسيمات الفضة النانوية إلى داخل جسم اليرقة. بعد ذلك، تمارس الفضة النانوية تأثيرها السمي عبر الارتباط بالمكونات الخلوية وتوليد أنواع الأوكسجين التفاعلي(ROS)، ما يؤدي إلى إجهاد تأكسدي شديد داخل الخلايا. كما تسهم في تعطيل الإنزيمات الحيوية وإتلاف البروتينات والأحماض النووية، مما يسرع من تدهور الأنسجة ويعطل العمليات الحيوية مثل التغذية والنمو، ويعيق آليات إزالة السموم والانسلاخ. ونتيجة لذلك، يحدث اختلال كبير في التوازن الفسيولوجي لليرقة وينتهي بموتها بسرعة أعلى مقارنة باستخدام كل عامل بمفرده(Martínez,2024; Madasamy,etal,2023). .

جدول (1) **تأثير تراكيز مختلفة من جسيمات الفضة النانوية و انزيم البروتيز للفطر على مدة الطور اليرقي وعدد اليرقات الميته**

	التركيز					
	Control	5%	10%	15%	20%	25%
الفضة النانوية	0	8	12	20	23	29
انزيم البروتيز	0	7	13	17	20	28
الفضة النانوية+ انزيم البروتيز	0	9	15	20	25	30

1-6-3-2 هلاك الطور العذري للذبابة المنزلية

تُظهر النتائج الواردة في الجدول (2) مدى فاعلية تاثير انزيم البروتيز والمواد النانوية في نسبة هلاك الطور العذري . اذ سجل التركيز **25%** اعلى نسبة قتل اذ بلغت 28 عذراء بعد 24 -48 ساعة عند معاملة بمزيج الفضة النانوية مع انزيم البروتيز , واقل نسبة قتل كانت عند التركيز **5%** اذ كانت نسبة القتل 5 عذروات بعد 24 -48 ساعة من المعاملة بأنزيم البروتيز توضح النتائج وجود فروق معنوية بين التركيزين من جهة، وبين فترتي التعريض من جهة أخرى. كما أظهرت التراكيز 10%و15% و20% نسب قتل متفاوتة اذ سجلت نسب قتل (18.16,12) عذراء على التوالي عند المعاملة مع

انزيم البروتيز الممزوج مع جسيمات الفضة النانوية , في حين كان اقل تاثير على عدد العذارى المقتولة والتاثير على مدى بزوغ العذارى عند استخدام انزيم البروتيز بجميع التراكيز بالمقارنة مع المعاملات الاخرى - إذ سجلت جميعها فروقًا معنوية فيما بينها. ويبين التحليل الإحصائي أن جميع التراكيز تفوقت معنوياً مقارنةً بمعاملة السيطرة، التي لم تسجل أي نسبة هلاك (0%) بعد مرور 48 ساعة. تتفق نتائج الدراسة الحالية مع ما توصل اليها الكلش (2023) سُجِّلت زيادة ملحوظة في نسبة عدم بزوغ العذارى، حيث بلغت 96% عند استخدام المستخلصات النباتية بتركيز 12.5% الممزوجة بالمستخلص نبات الحرمل ، في حين كانت 10% عند المعاملة بالمستخلص نبات الحرمل فقط عند نفس التركيز .

كما تتفق هذه الدراسة مع توصل اليه (الفتلاوي،2021) في دراسته لتقييم فعالية جسيمات الفضة النانوية المخلقة حيويا بإستخدام معلقات بعض أنواع الفطريات في مقاومة بعوض *Culex quinquefasciatus* وجد ان زيادة معدل قتل العذروات الى 73.33% عند استخدام الفضة النانوية المحضرة بصورة حيوية عند التركيز 25 جزء بالمليون بالمقارنة مع نسبة (66.66%) عند استخدام الفضة النقية

إن انخفاض تأثير انزيم البروتيز للفطر على طور العذراء يعزى الى وجود الشرانق والتي تعمل كبيئة كاره للماء فضلا عن الكيوتكل الذي يكون أكثر صلابةً من الطور اليرقي لان بناء الكايتين يصل إلى أعلى مستوى له في مرحلة ما قبل العذراء لذى يحتاج إنزيم البروتيز المفرز من قبل فطر*T.harzianum* مدة زمنية أطول لتحليل الطبقة الدهنية. (Hasanوجماعته,2013).

جدول رقم (2) عدد العذراوات الميتة

	التركيز					
	Control	5%	10%	15%	20%	25%
الفضة النانوية	**0**	**10**	**15**	**18**	**20**	**25**
انزيم البروتيز	**0**	**5**	**14**	**18**	**20**	**23**
الفضة النانوية+انزيم البروتيز	**0**	**12**	**16**	**19**	**22**	**28**

تفوق جسيمات الفضة النانوية المحضرة حيوياً والممزوجة مع الانزيم للفطر في نسبة القتل ربما يعود ذلك إلى ان جسيمات الفضة النانوية ربما تكون عملت ممر لانزيم البروتيز للدخول الى داخل الكبسولة المحيطة بالعذراء والعمل التآزر الذي يحدث بين الانزيم وجسيمات الفضة النانوية ، تولد الفضة النانويةReactive Oxygen Species ROS ، وتؤدي

إلى تلف الخلايا، تعطيل الانقسام الخلوي، وفشل إعادة بناء الأنسجة(Histogenesis) ، مما يسبب اضطراب تكوين الأعضاء وفشل التحول إلى الحشرة الكاملة أو موت العذراء. تتوافق هذه الملاحظات مع نتائج (Liu etal.,2024) التي أظهرت أن الفضة النانوية المنتجة باستخدام فطريات Trichoderma تعزز تلف البنى الخلوية وتعطل الوظائف الأيضية، مما يزيد من كفاءة المكافحة الحيوية.

الاستنتاج:

بينت النتائج تفوق الفعل التازري مابين جسيمات الفضة النانوية وانزيم البروتيز مقارنة مابين فعالية انزيم البروتيز كلا على حدى اذا اعطى اعلى نسبة قتل في الطورين ووجدت علاقة طردية بين زيادة التراكيز ونسبة القتل ، ويعزى هذا التفوق الى الية عمل جسيمات الفضة النانوية التي تعمل كممر لتسهيل مرور انزيم البروتيز الى دخل جسم الحشرة اضافة الى ذلك فعالية الجسيمات النانوية نفسها من خلال توليد الاوكسجين التفاعلي ROS الذي يعمل على اتلاف الخلايا والبروتينات والمادة النووية DNA. بينت الدراسة الحالية فعالية المكافحة الحيوية باستخدام منتجات الايض الثانوي للفطر الممزوجة مع الفضة النانوية في مكافحة الذبابة المنزلية.

المصادر :

البجواري، يونس إبراهيم (2016). تأثير مساحيق ومستخلصات بذور البازلاء وفول الصويا ضد يرقات خنفساء الخابرا *Trogoderma granarium* (Everts).رسالة ماجستير، قسم علوم الحياة، كلية العلوم، جامعة الموصل، نينوى.

الفتلاوي ، علي عبد الحميد عبد الأمير ،(2021)،تقييم فعالية جسيمات الفضة النانوية المخلقة حيويا بإستخدام حيويا بإستخدام معلقات بعض أنواع الفطريات في مقاومة بعوض *Culex quinquefasciatus* ، رسالة ماجستير، قسم علوم الحياة، كلية العلوم، جامعة القادسية.

الكلش ،سلام جاسم محمد (2023)، تأثير بعض المستخلصات النباتية والمبيدات المحملة نانويًا على أطوار الذبابة المنزلية ***Musca domestica* L. (Diptera : Muscidae)**، **اطروحة دكتوراة ،قسم علوم الحياة ،كلية التربية ،جامعة سامراء .**

عبد الفتاح ،نهاد مصطفى (1989). تأثير درجات الحرارة الثابتة المتبادلة و الرطوبة النسبية في نمو وبقاء و تكاثر الذبابة المنزلية .*Musca domestica* L (Diptera: Muscidae) ، رسالة ماجستير، كلية العلوم ، جامعة بغداد.

محمود ,حسين رياض.(2017).تقييم تأثير جزيئات الفضة المخلقة حيويا بواسطة الفطر الممرض للحشرات *Entomophthora muscae*على الأطوار اليرقية لحشرة الذبابة المنزلية*Musca domestic* . مجلة القادسية للعلوم الصرفة. المجلد 22، العدد 3 :8ص.

الراوي ،خاشع محمود ,وخلف الله ,عبد العزيز محمد (2000). تصميم وتحليل التجارب الزراعية ،مطابع وزارة التعليم العالي والبحث العلمي– جامعة الموصل – العراق ص255.

المشهداني ,زينة زكريا ادريس محمد, (2022).التاثيرات الحيوية لجسيمات الفضة النانوية المصنعة والمحضرة باستخدام مستخلص اوراق السبحبح ضد يرقات الذبابة المنزلية *Musca domestica* ,رسالة ماجستير ,جامعة الموصل ,كلية العلوم ,قسم علوم الحياة .

References:

Hassan, A. O., Uyigue, P. O., Akinleye, A. C., & Oyeromi, O. B. (2021). The role of common housefly as a mechanical vector of pathogenic microorganisms. *Funksec here*, *3*(1), 261-269.

Asadi ,S.; Charati1,F.R.; Akbari1,R. and Razavi,S.A.(2018) Green synthesis of silver nanoparticles using Taxus baccata Leaves extract and identify its specifications. J. Mater. Environ. Sci., 9 (10) : 2798-2803.

Gupta, D. and Chauhan, P. (2017). Green Synthesis of Silver Nanoparticles Involving Extract of Plants of Different Taxonomic Groups. J Nanomed Res, 5 (2), pp110.

Tweddell,R.J., Jabaji-Hare, S.H. and Charest ,P.M. 1994.Production of chitinase andβ-1 ,3glucanase by *stachybortys eleyans*, amycoparasite of *Rhizoctonia solani* Appl Environ.Microbiol. ,60:489-495.

Liu, X., Li, T., Cui, X., Tao, R., & Gao, Z. (2024). Antifungal mechanism of nanosilver biosynthesized with Trichoderma longibrachiatum and its potential to control muskmelon Fusarium wilt. Scientific Reports, 14(1), 20242.

Oliveira, M. S., Nascimento, M. A., Cavados, C. F., Chaves, J. Q., Rabinovitch, L., Lima, M. M., & Queiroz, M. M. (2006). Biological activity of Bacillus thuringiensis strains against larvae of the blowfly Chrysomya putoria (Wiedemann)(Diptera: Calliphoridae). *Neotropical entomology*, *35*(6), 849-852.

Martínez-Cisterna, D., Rubilar, O., Tortella, G., Chen, L., Chacón-Fuentes, M., Lizama, M., ... & Bardehle, L. (2024). Silver nanoparticles as a potent nanopesticide: Toxic effects and action mechanisms on pest insects of agricultural importance—A review. *Molecules*, *29*(23), 5520.

Madasamy, M., Sahayaraj, K., Sayed, S. M., Al-Shuraym, L. A., Selvaraj, P., El-Arnaouty, S. A., & Madasamy, K. (2023). Insecticidal mechanism of botanical crude extracts and their silver nanoliquids on Phenacoccus solenopsis. *Toxics*, *11*(4), 305.

Hasan, S. ; Ahmed, A. ; Purwar ,A. ;Nausheen , K. ; Kundan , R. & Gupta, G. (2013). Production of extracellular enzymes in the entomopathogenic Fungus Verticillium lecanii . Bioinformation 9(5):238-242 .

Constantin, M., Răut, I., Suica-Bunghez, R., Firinca, C., Radu, N., Gurban, A. M., ... & Jecu, L. (2023). Ganoderma lucidum-Mediated Green Synthesis of Silver Nanoparticles with Antimicrobial Activity. *Materials*, *16*(12), 4261.

Sirisha, S., Kaur, S. G., & Palem, P. C. (2010). Strain improvement of entomopathogenic fungal species *Beauveria bassiana* and **Metarhizium anisopliae** by protoplast fusion.

Majeed, S., Danish, M., Zahrudin, A. H. B., & Dash, G. K. (2018). Biosynthesis and characterization of silver nanoparticles from fungal species and its antibacterial and anticancer effect. Karbala International Journal of Modern Science, 4(1), 86-92.

Rose, G. K., Thakur, B., Soni, R., & Soni, S. K. (2023). Biosynthesis of silver nanoparticles using nitrate reductase from Aspergillus terreus N4 and their potential use as a non-alcoholic disinfectant. Journal of Biotechnology, 373, 49-62.